Artur BAL

POLITECHNIKA ŚLĄSKA, INSTYTUT AUTOMATYKI, ul. Akademicka 16, 44-100 Gliwice

Segmentacja obrazów obiektów w postaci skupisk na przykładzie obrazów kometowych

Dr inż. Artur BAL

Absolwent Politechniki Śląskiej, gdzie pracuje na stanowisku adiunkta w Instytucie Automatyki. Jego zainteresowania badawcze dotyczą m.in. przetwarzania i analizy obrazów, a w szczególności: analizy obrazów biomedycznych, obszarowej segmentacji obrazów, wizualnej archiwizacji obiektów, odwzorowania barw. Jest kierownikiem Laboratorium Wizualnej Archiwizacji Cyfrowej utworzonego w Instytucie Automatyki Politechniki Śląskiej.



e-mail: Artur.Bal@polsl.pl

Streszczenie

W pracy przedstawiono propozycję metody segmentacji obiektów będących skupiskami, przykładem takich obiektów są tzw. komety będące wynikiem jednokomórkowej elektroforezy żelowej. Prezentacja nowej metody została poprzedzona przedstawieniem wyników segmentacji tych obrazów metodami standardowymi. Opracowana metoda działa dwuetapowo: etap 1. to segmentacja służąca wyznaczeniu fragmentów składowych obiektów, etap 2 wykorzystuje minimalne drzewo rozpinające do określenia zbioru fragmentów tworzących poszczególne obiekty.

Slowa kluczowe: analiza obrazów, segmentacja obrazów, binaryzacja obrazów, obiekty w postaci skupisk, minimalne drzewo rozpinające.

Aggregate object image segmentation on example of comet assay images

Abstract

This paper deals with the problem of segmentation of aggregate objects i.e. objects which are formed by the set of unconnected elements smaller than the object. Images of such objects are very difficult to be segmented. An example of this type of objects are "comet" from Single Cell Gel Electrophoresis images (also called comet assay images). In comet assay images the comet region is formed by unconnected fragments of DNA (Fig. 1). Due to unsatisfying results of comet segmentation by standard methods (Figs. 2and 3) a new, two-stage method for segmentation of such images has been developed. The first stage is image segmentation whose result is a set of comet elements e_i representing DNA fragments. In the second stage the minimum spanning trees T_p are created — graph vertexes v_i represent elements e_i , while length d_{ij} of edge e_{ij} between vertexes v_i and v_i is equal to the minimum distance between pixels of elements e_i and e_i . Then for each connected tree T_p its convex hull defining the region of comet K_p (Fig. 4) is created. In case of defects appearing in comet images (Fig. 5) the incorrect region can be rejected e.g. by use of geometrical features describing regions.

Keywords: image analysis, image segmentation, image binarization, aggregate objects, minimum spanning tree.

1. Wstęp

Proces segmentacji obrazów jest jednym z najważniejszych procesów realizowanych w trakcie przetwarzania i analizy obrazów cyfrowych [3]. W ogólnym przypadku konieczność realizacji tego procesu zachodzi każdorazowo, gdy celem przetwarzania jest uzyskanie informacji o cechach obiektów przedstawionych na analizowanym obrazie. Jakość wyniku segmentacji decyduje w znacznym stopniu o poprawności całego procesu analizy obrazów.

Do chwili obecnej, pomimo kilkudziesięciu lat rozwoju metod segmentacji, nie opracowano jednej uniwersalnej metody pozwalającej na prawidłowe przeprowadzenie tego procesu dla ogólnych danych oraz nie udało się również opracować ogólnej teorii segmentacji [3, 12]. Aktualnie najlepsze wyniki uzyskiwane są, gdy segmentacji podlegają obiekty spójne, dla których reprezentujące je piksele charakteryzują się dużą jednorodnością cech takich jak jasność lub barwa i dodatkowo istnieje dobrze rozpoznawalna różnica między pikselami reprezentującymi obiekt a innymi pikselami. Dla rzeczywistych danych takie warunki zachodzą jednak rzadko. Znacznie częściej powierzchnia poszczególnych obiektów na obrazach jest niejednorodna pod względem cech fotometrycznych (np. posiada teksturę). Ponadto obraz obiektów może być zakłócony przez występujące na obrazach cienie lub odblaski [12], a dodatkowo same obiekty mogą nie być prezentowane na analizowanych obrazach jako spójne obszary. Brak spójności obiektów może być np. efektem częściowego przesłonięcia obiektów na obrazie lub też może wynikać z tego, że analizowane obiekty w rzeczywistości nie są spójne, a są skupiskiem wielu mniejszych obiektów o określonych cechach. Wszystkie te uwarunkowania znacznie utrudniają prawidłową segmentację obrazów.

W pracy skupiono się na zagadnieniu segmentacji obiektów niespójnych, które są skupiskami — przykładem tego typu obiektów są tzw. obrazy kometowe. Pewne podstawowe informacje dotyczące obrazów kometowych, w szczególności informacje istotne z punktu widzenia prowadzenia segmentacji tych obrazów, przedstawiono w rozdziale 2. W rozdziale 3. przedstawiono problemy występujące przy segmentacji obrazów kometowych przy pomocy standardowych metod binaryzacji obrazów. Kolejny, 4. rozdział zawiera opis nowej metody segmentacji obrazów kometowych, a także przedstawiono uzyskane przy jej pomocy wyniki. W prezentowanej metodzie uwzględniono fakt iż poszczególne komety są w rzeczywistości niespójnymi skupiskami fragmentów DNA. Ostatni, 5. rozdział zawiera krótkie podsumowanie.

2. Podstawowe informacje na temat obrazów kometowych

Termin obrazy kometowe jest to zargonowe określenie obrazów otrzymanych w wyniku przeprowadzenia jednokomórkowej elektroforezy żelowej (ang. Single Cell Gel Electrophoresis, SCCE) - proces ten określa się często jako test kometowy (ang. comet assay) [7, 9]. Metoda ta została po raz pierwszy przedstawiona w pracy [10] i pozwala ona m.in. na ocenę stopnia uszkodzenia pojedynczych komórek poddanych działaniu czynników stresujących komórki np. w postaci promieniowania jonizującego. Stopień uszkodzenia określany jest na podstawie ilości DNA jakie pod wpływem pola elektrostatycznego wydostało się z odpowiednio przygotowanych i unieruchomionych w żelu agarozowym, jąder komórek. W celu obserwacji takich preparatów zawarte w nich DNA wybarwia się barwnikami fluorescencyjnymi, a samą obserwację prowadzi się przy pomocy mikroskopu fluorescencyjnego. Przykładowe obrazy kometowe prezentujące komórki o różnym stopniu uszkodzenia przedstawia rysunek 1 (jasne fragmenty obrazów reprezentują skupiska DNA).

Z punktu widzenia przetwarzania obrazów istotne znaczenie ma to, że wydostające się z jądra komórkowego DNA nie tworzy jednego spójnego i jednorodnego obszaru. DNA wydostaje się bowiem z jądra w postaci różnej wielkości fragmentów czego wynikiem jest "ziarnisty" obszar w postaci "chmury" jasnych punktów. Chmury te określane są w literaturze jako ogony komet, natomiast jądra komórek (w pracy widoczne jako okrągła struktura po lewej stronie każdej komety) określa się jako głowy komet. Łącznie obszary głowy i ogona tworzą całą kometę.

Oprócz braku jednorodności i spójności obszaru ogona analizę obrazów komet dodatkowo utrudniają np. zwykle niewielka różnica jasności między kometą (zwłaszcza jej ogonem) a jej tłem, zbyt bliskie w stosunku do siebie położenie komet w preparacie, nakładanie się na siebie fragmentów komet (rys. 5a), artefakty będące wynikiem niewłaściwego przygotowania preparatu (rys. 5b), błędy popełnione podczas akwizycji obrazów. Obrazy kometowe zazwyczaj są obecnie analizowane bezpośrednio przez eksperta lub też przy wykorzystaniu wspomagającego ten proces, pracującego w trybie interaktywnym z użytkownikiem, oprogramowania (tego typu programy prezentują np. prace [2, 5]). Ponieważ pojedynczy test kometowy wymaga zwykle przeanalizowania kilkuset obrazów komet takie metody analizy obrazów powodują, że wykonanie tego testu jest zwykle bardzo czasochłonne a uzyskany wynik nie jest powtarzalny i często jest obarczony dużym błędem. Taki stan rzeczy przyczynia się do tego, że pomimo swojej dużej użyteczności, np. do oceny stanu pacjentów w trakcie terapii antynowotworowej, test kometowy nie jest często stosowany.



- Rys. 1. Przykłady obrazów kometowych otrzymywanych w wyniku jednokomórkowej elektroforezy żelowej (kolumna lewa) i ich powiększone fragmenty (kolumna prawa); widoczna jest ziarnista struktura komet oraz niespójność fragmentów DNA w obrębie obszarów komet
- Fig. 1. Examples of comet assay image (left column) and its enlarged fragments (right column); the grainy structure and unconnectivity of the DNA fragments in comet regions are clearly visible

Rozwiązaniem tego problemu byłby w pełni automatyczny system do analizy obrazów kometowych. Takie rozwiązania są już dostępne (np. system AUTOCOMETTM), jednak ich cena przekracza możliwości dużej części instytucji potencjalnie nimi zainteresowanych. Taka sytuacja była motywacją do poszukiwania własnych rozwiązań automatycznej analizy obrazów kometowych.

3. Zastosowanie standardowych metod binaryzacji do segmentacji obrazów kometowych

3.1. Warunki badań

W celu przeprowadzenia analizy obrazów kometowych metodami komputerowymi konieczne jest: *i*) określenie miejsc występowania komet na obrazach, *ii*) wyznaczenie dla każdej komety jej głowy i ogona. W ramach niniejszej pracy skupiono się na realizacji pierwszego z podanych celów. Tak jak to wcześniej podano pojedynczy test kometowy wymaga zazwyczaj przeanalizowania kilkuset obrazów komet dlatego istotne jest aby poszczególne etapy przetwarzania i analizy obrazów miały możliwie małą złożoność obliczeniową. Metodami segmentacji spełniającymi to wymaganie są niektóre metody binaryzacji obrazów.

Binaryzacja polega na przydzieleniu pikselom p(i, j) obrazu *I* jednej z dwóch etykiet ze zbioru $\{e_1, e_2\}$ zgodnie z zależnością

$$B(i,j) = \begin{cases} e_1 & \text{gdy} & I(i,j) < \tau(i,j) \\ e_2 & \text{gdy} & I(i,j) \ge \tau(i,j) \end{cases},$$
(1)

gdzie I(i, j) jest wartością piksela p(i, j) obrazu I, B(i, j) jest wartością tego piksela na obrazie binarnym, a $\tau(i, j)$ jest progiem binaryzacji. Jeżeli wartość $\tau(i, j)$ jest stała dla wszystkich pikseli obrazu I to realizowana jest binaryzacja globalna, natomiast gdy wartość $\tau(i, j)$ jest funkcją zależną od (i, j) wówczas realizowana jest binaryzacja lokalna obrazu. W pracy przyjęto, że $e_1 = 0$ i $e_2 = 1$, i wartości te odpowiadają, odpowiednio, pikselom reprezentującym tło i pikselom należącym do obszarów komet. Na potrzeby pracy przetestowano, pod kątem możliwości ich zastosowania do segmentacji obrazów kometowych, trzy standardowe metody binaryzacji tj. globalną metodę Otsu [11] i dwie metody lokalne: Bernsena [1] i Niblacka [8].

Wstępne testy pokazały, że segmentacja musi być poprzedzona przetwarzaniem wstępnym mającym na celu odfiltrowanie z obrazów niewielkich zakłóceń. Dla analizowanego zestawu obrazów wystarczające okazało się zastosowanie filtru medianowego z maską 3×3 lub 5×5 (rys. 2). Przykładowe wyniki segmentacji obrazów testowanymi metodami przedstawione zostały na rysunku 3; dla porównania przedstawiono na nim także wyniki binaryzacji dla ręcznie dobieranego progu τ .



- Rys. 2. Porównanie wpływu filtracji medianowej na wyniki segmentacji obrazów kometowych a) obraz oryginalny, wyniki segmentacji metodą Bersena:
 b) obrazu oryginalnego i obrazów po filtracji medianowej obrazu a) z maską: c) 3×3 i d) 5×5
- Fig. 2. Comparison of influence of median filtering on segmentation results of comet assay images—a) original image, segmentation results using Bersen methods of: b) original image, images after median filtering with mask:
 c) 3×3 and d) 5×5

3.2. Analiza wyników segmentacji

Analizując otrzymane wyniki (rys. 3) można stwierdzić, że żadna z testowanych metod (w tym także metoda z ręcznym doborem progu) nie dała w pełni zadawalających wyników.

W przypadku metod globalnych na obrazach wynikowych oprócz dużych obszarów reprezentujących głowy komet wraz z częścią ich ogonów występuje pewna liczba małych obszarów leżących w ich pobliżu. Występowanie tego typu nadsegmentacji pociąga za sobą konieczność stosowania metod przetwarzania końcowego ([12, 13]) np. w postaci usuwania małych obszarów lub odpowiednich operacji morfologicznych. W przypadku metody Otsu można zauważyć, że ma ona dodatkowo tendencję do zaznaczania zbyt małych fragmentów obrazów jako obszarów komety. Jest to szczególnie widoczne w obszarach ogonów komet.

Wyniki uzyskane metodą Niblacka w praktyce dyskwalifikują stosowanie tej metody do segmentacji obrazów kometowych niezależnie od stosowanych parametrów wyniki były podobne do wyników prezentowanych na rysunku 3. Cechą charakterystyczną metody Bernsena jest natomiast najlepsza spośród wszystkich testowanych metod segmentacja mocniej świecących fragmentów DNA tworzących komety. Uzyskanie takich wyników wymaga właściwego doboru wartości parametrów metody - możliwy okazał się jednak dobór jednego zestawu wartości parametrów dla wszystkich analizowanych obrazów. W przypadku zastosowań praktycznych oznacza to możliwość jednorazowego strojenia parametrów metody stosownie do przyjętych w danym laboratorium procedur akwizycji obrazów. Prezentowane wyniki uzyskane metodą Bernsena (rys. 3) uzyskano dla: wielkości maski 5×5, progowej wartość kontrastu c = 22 i progu globalnego $\tau_0 = \tau_{Otsu} + 0, 2$, gdzie τ_{Otsu} jest wartością progu wyznaczoną metodą Otsu dla danego obrazu (przyjęto, że poziomy szarości obrazów zapisane są w zakresie $\langle 0, 1 \rangle$).

Należy jednak zauważyć, że wyniki uzyskane metodą Bernsena bez dodatkowego przetwarzania nie mogą być wykorzystane do analizy obrazów kometowych. Wynika to m.in. z faktu braku bezpośredniej możliwości wskazania na obrazie wynikowym obszarów należących do jednej komety i nie uwzględnienia w ewentualnej analizie ciemniejszych obszarów ogona, co prowadzić może do zafałszowania wyników całego testu kometowego.

Metoda segmentacji komet uwzględniająca ich niespójność

Analizując wyniki uzyskane metodą Bernsena (rys. 3) można zauważyć, że dla dowolnych par obszarów $\{r_i, r_j\}$ znajdujących się w swoim najbliższym sąsiedztwie ($r_i, r_j \in \mathbb{N}$) i należących do tej samej komety K_p odległość d_{ij} między tymi obszarami jest mniejsza niż najmniejsza odległość d_{kl} dla dowolnej pary, należących do różnych komet K_r i K_q , obszarów $\{r_k, r_l\}$ takich, że $r_k, r_l \in \mathbb{N}$. Najbliższe sąsiedztwo N obszaru r_i rozumiane jest w pracy jako zbiór obszarów r_j leżących najbliżej r_i w sensie d_{ij} , w każdym z kierunków. Odległość d_{ij} jest równa odległości najbliższych sobie punktów obszarów r_i i r_j , które należą do konturów wewnętrznych tych obszarów.

Dla obrazów spełniających takie wymaganie można zatem znaleźć wartość ε spełniającą warunek

$$\exists \ \forall \\ {}_{\varepsilon>0} \ {}_{r_i,r_j\in\mathbb{N}} : \begin{cases} d_{ij} < \varepsilon \ | \ r_i \wedge r_j \in K_p \\ d_{ij} \ge \varepsilon \ | \ r_i \in K_p, \ r_j \in K_q, K_p \neq K_q \end{cases} .$$
 (2)

Właściwy dobór ε pozwoli więc na określenie, tylko na podstawie d_{ii} , przynależności obszarów r_i do komet K_p .

Istotnym problemem jest trudność praktycznej realizacji tego podejścia. Można jednak na ten problem spojrzeć inaczej. Zamiast wyznaczać najbliższe sąsiedztwo dla wszystkich obszarów można wyznaczyć minimalne drzewo rozpinające (ang. minimum spinning tree, MST) T [4] między wszystkimi obszarami r, wyznaczonymi w obrazie. Przy takim podejściu obszary r_i są reprezentowane przez wierzchołki v_i grafu T, długości jego krawędzi e_{ii} jest równa odległości d_{ii} między obszarami r_i i r_j , które reprezentowane są przez wierzchołki v_i i v_j incydentne z krawędzią e_{ii} . W ten sposób dla każdego obszaru r_i wyznaczona jest odległość między nim, a przynajmniej jednym obszarem r_i należącym do jego najbliższego sąsiedztwa N . Jeżeli dla danego obrazu warunek (2) jest prawdziwy to stosując go tylko do długości krawędzi drzewa rozpinającego można ustalić jakie obszary r, należą do komet K_p widocznych na obrazie. Z punktu widzenia praktycznego stosowania takiego podejścia wykorzystanie minimalnego drzewa rozpinającego pozwala na skorzystanie z obszernej biblioteki dobrze sprawdzonych i co ważne efektywnych algorytmów do jego poszukiwania.

Aby wyznaczyć zbiory obszarów r_i należących do poszczególnych komet K_p nie ma potrzeby wyznaczania całego drzewa T. Z punktu widzenia zadania przydziału obszarów r_i do komet K_p wystarczy, że proces tworzenia drzewa T zostanie zatrzymany, gdy do połączenia pozostały wyłącznie pary wierzchołków, które reprezentują obszary należące do różnych komet. Gdyby tworzenie drzewa T realizowane byłoby w porządku zgodnym z rosnącą wartością długości krawędzi e_{ij} to realizacja takiego podejścia



Rys. 3. Porównanie wyników binaryzacji obrazów kometowych różnymi metodami

Fig. 3. Comparison of comet assay image segmentation using different binarization methods

wymagałby jedynie zatrzymania procedury tworzenia drzewa jeżeli do połączenia pozostałyby już tylko pary wierzchołków v_i i v_j , dla których odległość d_{ij} spełnia warunek $d_{ij} \ge \varepsilon$. W takim przypadku niedokończone drzewo T będzie składać się z przynajmniej z tylu spójnych poddrzew T_p ile komet K_p występuje w obrazie; wierzchołki $v_i \in T_p$ określają zbiór obszarów r_i należących do komety K_p . Możliwość realizacji takiego podejścia daje poszukiwanie minimalnego drzewa rozpinającego metodą Kruskala [6] i właśnie ta metoda została wykorzystana w pracy.

W celu wyznaczenia obszarów poszczególnych komet K_p dla każdego spójnego drzewa T_p , a dokładnie obszarów r_i reprezentowanych przez wierzchołki $v_i \in T_p$, wyznaczono otoczkę wypukłą (ang. *convex hull*) [4]. Przykładowe wyniki stosowania tej metody dla obrazów z rysunku 3 przedstawiono na rysunku 4.



- Rys. 4. Wyniki segmentacji obrazów z rysunku 3 przy wykorzystaniu opracowanej metody; kolumna lewa - obrazy po segmentacji z zaznaczonymi minimalnymi drzewami rozpinającymi, kolumna prawa - obszary komet wyznaczone przez otoczki wypukłe rozciągnięte wokół drzew rozpinających
- Fig. 4. Segmentation of images from Fig. 3 by use of the developed method; left column - images after segmentation with minimum spanning trees, right column - comet regions obtained by creation of convex hull for each minimum spanning tree

Z punktu widzenia automatyzacji pracy algorytmu istotne jest, że wszystkie wyniki otrzymano dla $\varepsilon = 60$, natomiast do segmentacji metodą Bernsena zastosowano parametry podane w rozdziale 3.2. Spośród testowanych metod prezentowana metoda najlepiej wydzieliła obszary poszczególnych komet.

5. Podsumowanie

Przedstawiony w poprzednim rozdziale algorytm segmentacji może znaleźć zastosowanie do analizy innych niż tylko obrazy kometowe typów obrazów prezentujących obiekty, które są skupiskami lub też obiektów, które wygodnie jest w ten sposób traktować (np. ze względu na otrzymywane dla nich wyniki segmentacji standardowymi metodami). Warunkiem koniecznym poprawnego działania proponowanej metody jest spełnienie przez obszary znalezione w danym obrazie warunku (2). W przypadku, gdy warunek ten nie jest spełniony algorytm daje błędne wyniki (rys. 5). Jeżeli jednak po segmentacji zastosuje się dodatkowy etap w postaci weryfikacji otrzymanych wyników wówczas takie błędne wyniki zostaną odrzucone, a tym samym nie będą one brane pod uwagę w dalszej analizie. Do weryfikacji można np. wykorzystać cechy geometryczne otrzymanych obszarów.



Rys. 5. Wyniki segmentacji opracowaną metodą obrazów kometowych z wadami w postaci: a) nachodzenia komet na siebie, c) zanieczyszczeń mechanicznych preparatu; b) i d) otoczki wypukłe otrzymane dla tych obrazów Fig. 5. Segmentation of comet assav images with defects in form of: a) overlap

Fig. 5. Segmentation of comet assay images with defects in form of: a) overlap comets, c) mechanical contaminations; b) and d) convex hulls for those images

W ramach dalszych prac nad przedstawionym algorytmem planowane jest poszukiwanie metod pozwalających na automatyczne wyznaczenie zarówno wartości ε , jak również parametrów stosowanej metody binaryzacji. Ich opracowanie otwarłoby drogę do opracowania w pełni automatycznej metody segmentacji i być może również analizy obrazów kometowych.

Dziękuję Pani Małgorzacie Stanek za pomoc w przeprowadzeniu części badań. Praca została sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki.

6. Literatura

- Bernsen J.: Dynamic thresholding of gray-level images, Proceedings 8th International Conference on Pattern Recognition, Paris, ss. 1251– 1255, 1986.
- [2] Chaubey R.C., Bhilwade H.N., Rajagopalan R., Bannur S.V.: Gamma ray induced DNA damage in human and mouse leucocytes measured by SCGE-Pro: a software developed for automated image analysis and data processing for Comet assay, Mutation Research, vol. 490, no. 2, ss.: 187–197, 2001.
- [3] Cheng H.D., Jiang X.H., Sun Y., Jingli Wang: Color image segmentation: advances and prospects, Pattern Recognition, vol. 34, no. 12, ss: 2259–2281, 2001.
- [4] Cormen T.H., Leiserson Ch.E., Rivest R.: Wprowadzenie do algorytmów, WNT, 2004.
- [5] Końca K., Lankoff A., Banasik A., Lisowska H., Kuszewski T., Góźdź S., Koza Z., Wojcik A.: A cross platform public domain PC image analysis program for the comet assay, Mutation Research, vol. 534, no. 1–2, ss.: 15–20, 2003.
- [6] Kruskal J.B.: On the Shortest Spanning Subtree of a Graph and the Traveling Salesman Problem, Proceedings of the American Mathematical Society, vol 7, no. 1, ss. 48–50, 1956.
- [7] Liao W., McNutt M.A., Zhu W.G.: Review Article The comet assay: A sensitive method for detecting DNA damage in individual cells, Methods, vol. 48 no. 1, ss.: 46–53, 2009.
- [8] Niblack W.: An Introduction to Digital Image Processing, Prentice Hall, 1986.
- [9] Olive P.L.: Review. Impact of the comet assay in radiobiology, Mutation Research/Reviews in Mutation Research, vol. 681, no. 1, ss.: 13–23, 2009.
- [10] Östling O., Johanson K.J.: Microelectrophoretic study of radiationinduced DNA damages in individual mammalian cells, Biochemical and Biophysical Research Communications, vol. 123, no. 1, ss.: 291– 298, 1984.
- [11] Otsu N.: A threshold selection method from gray-level histo-grams, IEEE Trans. Sys., Man., Cyber., vol. 9, no. 1, ss. 62–66, 1979.
- [12] Palus H.: Wybrane zagadnienia przetwarzania obrazów barwnych, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice, 2006.
- [13] Palus H.: Przetwarzanie końcowe w segmentacji obszarowej obrazów barwnych, Przegląd Elektrotechniczny, vol. 84, no. 9, ss. 96–99, 2008.

otrzymano / received: 18.10.2011 przyjęto do druku / accepted: 01.12.2011